

## 審査の結果の要旨

氏名 森 和彦

本研究は、胃癌の最適な治療法選択において重要な役割を演じている腹腔内洗浄細胞診に、高感度な腫瘍細胞検出法である RT-PCR を導入するため、マイクロアレイ解析による遺伝子スクリーニングを通じたマーカー遺伝子の同定、同定された遺伝子の活用法の検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. マイクロアレイによって評価可能な多数の遺伝子（約 1 万 2 千種）を対象に、胃癌マーカー遺伝子同定を目的とした遺伝子スクリーニングを行った。マーカー遺伝子発現の陽性対照群として胃癌細胞株、陰性対照群として早期胃癌症例の腹腔内洗浄水沈渣検体をマイクロアレイ解析の対象とし、陽性対照群に特異的に発現を認める遺伝子を、マーカー遺伝子の候補として抽出した。候補遺伝子より、胃癌組織のマイクロアレイ解析をもとに胃癌での発現頻度が低い遺伝子を除き、さらに臓器特異性の低い事が知られている遺伝子を除いた遺伝子を二次スクリーニングの対象とした。二次スクリーニングでは 16 例の胃癌症例の腹腔内洗浄水に対し、実際に RT-PCR を行い、11 種のマーカー遺伝子（*TFF1*、*TFF2*、*CK20*、*FABP1*、*MUC2*、*MASPIN*、*PRSS4*、*GW112*、*SOX9*、*CDX1*、*MDK*）を同定した。このうち 5 種のマーカー（*TFF1*、*TFF2*、*CK20*、*FABP1*、*MUC2*）は nested PCR においても細胞診陽性例に特異性の高い結果を示し、定性的な発現判定が可能であった。
2. 胃癌開腹症例 99 例の腹腔内洗浄細胞診に、Nested PCR が可能な *TFF1*、*TFF2*、*FABP1*、*CK20*、*MUC2* をマーカー遺伝子として採用し、RT-PCR 法を導入した。2 種以上のマーカーで発現が検出された場合を陽性と判定すると、胃癌再発に対する特異性が 100%、細胞診陽性症例に対する感受性は 83% と高率であった。また、RT-PCR を用いて検出される胃癌の腹腔内遊離腫瘍細胞が、腹膜外再発の指標にもなる可能性が示された。
3. 複数マーカーを用いた PCR 法を、腹腔内洗浄細胞診に導入するための手法を開発し、評価を行った。Multiplex-RT-PCR とハイブリダイゼーションアレイを組み合わせるミニチップアッセイを最適化し、5 種の遺伝子 *TFF1*、*TFF2*、*FABP1*、*CK20*、*TACSTD1* を判定に用いる腫瘍検出法とした。同法は転移・再発に対して 96% の陽性的中率を有し、胃癌の再発に関しては通常 of 細胞診の約 2 倍の検出力を有することが示された。また、その陽性例の大部分において、腹

腔内洗浄水検体に含まれる異型細胞の存在が免疫染色により確認できた。また、MASPIN を用いた免疫染色の胃癌の腹腔内洗浄細胞診における有用性が示唆された。

以上、本論文はマイクロアレイ解析から胃癌のマーカー遺伝子となる遺伝子を複数同定し、それらを用いた RT-PCR 法の腹腔内洗浄細胞診における有用性を示した。同時にマーカーのひとつである MASPIN は、免疫染色による腹腔内洗浄細胞診においても有用である事が示された。本研究は、胃癌の補助化学療法の発展に伴い、ますます重要になると考えられる、腹腔内洗浄細胞診の感度、再現性の改善に今後貢献するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。